

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

„Vergiftung der Cholinesterase mit DDVP
in Serumproben von 100 Probanden –
Bestimmung der
Serumcholinesterase-Restaktivitäten
nach der Warburg-Methode“

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Wolfgang Joseph Heuberger
aus Schwabach



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546202_0096

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

„Vergiftung der Cholinesterase mit DDVP
in Serumproben von 100 Probanden –
Bestimmung der
Serumcholinesterase-Restaktivitäten
nach der Warburg-Methode“

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Wolfgang Joseph Heuberger
aus Schwabach

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. V. Becker
Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling
Tag der mündlichen Prüfung: 31.01.1983

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>
1. <u>Das Alkylphosphat DDVP</u>	1
1.1. <u>Einleitung</u>	1
1.2. <u>Physikalische Eigenschaften</u>	2
1.3. <u>Chemische Eigenschaften</u>	2
1.4. <u>Metabolismus</u>	4
2. <u>Problemstellung</u>	11
3. <u>Untersuchungsmethode</u>	15
3.1. <u>Gewinnung des Serums</u>	15
3.2. <u>Herstellung der Lösungen</u>	16
3.3. <u>Versuchsablauf</u>	16
3.4. <u>Berechnung der Restaktivität</u>	17
4. <u>Auswertung</u>	18
4.1. <u>Aufstellung der gemessenen Einzelwerte</u>	18
4.2. <u>Verteilung der Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivitäten</u>	24
4.3. <u>Einfluß des Geschlechts auf die Serumcholinesterase-Restaktivität</u>	26
4.4. <u>Korrelation zwischen Ausgangs- und Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$)</u>	29

4.5. <u>Korrelation zwischen Ausgangsaktivität</u> <u>und Restaktivität in Prozent der</u> <u>Ausgangsaktivität</u>	32
4.6. <u>Verteilung der Differenz</u> <u>Ausgangsaktivität - Restaktivität</u>	32
4.7. <u>Korrelation zwischen Serumcholinesterase-Ausgangsaktivität und der Differenz</u> <u>Ausgangsaktivität - Restaktivität</u>	33
4.8. <u>Korrelation zwischen dem Lebensalter</u> <u>der Probanden und ihrer Serumcholin-</u> <u>esterase-Restaktivität</u>	35
5. <u>Diskussion und Zusammenfassung</u>	36
6. <u>Literaturverzeichnis</u>	38

1. Das Alkylphosphat DDVP

1.1.

Einleitung

O,O-Dimethyl-O-(2,2-dichlor-vinyl)-phosphat (=DDVP, Dichlorvos; Strukturformel siehe Abb.1) ist als organischer Phosphorsäureester ein stark wirksames Gift, dem als Insektizid und Anthelmintikum eine große Bedeutung zukommt.

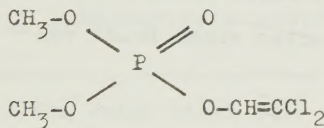


Abbildung 1:

Struktur des

DDVP - Moleküls

DDVP gehört zur Gruppe der Enolphosphate, welche in einer "atypischen" Michaelis-Arbusov-Reaktion aus α -Halogen-Carbonyl-Verbindungen und Trialkylphosphiten entstehen.

Die Wirkung dieser Alkylphosphate beruht auf einer Hemmung der Cholinesterase: ihre sehr labile Phosphorbindung bedingt, daß sich der Phosphor sehr leicht mit dem esteratischen Zentrum der Acetylcholinesterase verbindet. Statt einer Acetylierung der Cholinesterase, wie sie als Zwischenreaktion bei der enzymatischen Hydrolyse von Acetylcholin

auftritt, erfolgt nunmehr eine Phosphorylierung. So kommt es zur Blockierung des Abbaus von körpereigenem Acetylcholin - der Organismus vergiftet sich selbst.

1.2.

Physikalische Eigenschaften

DDVP ist eine farblose Flüssigkeit von angenehmem Geruch, die in Wasser 1 %ig und in Glycerin bei Zimmertemperatur 0,5 %ig löslich ist. Gut löst sich DDVP in den meisten organischen Lösungsmitteln.

Der Siedepunkt von DDVP liegt unter einem Druck von 1 mm Hg bei 74°C, bei 35°C unter einem Druck von 0,05 mm Hg (Schrader, 1963).

1.3.

Chemische Eigenschaften

Als ein gemischter Phosphorsäure-Triester besitzt DDVP zwei Methylgruppen und eine elektronenanziehende Dichlor-vinyl-Gruppe. Die elektronenanziehende Kapazität des anhängenden Sauerstoff-Atoms und der Dichlor-vinyl-Gruppe führt zu einer Aktivierung des Phosphors für einen nukleophilen Angriff. Dieser nukleophile Substitutionsmechanismus am Phosphor - wobei die P-O(dichlor-vinyl)-Bindung gelöst und das angreifende Nukleophil dimethylphosphoryliert wird - ist wesentlich sowohl für die insektizide Wirkung von DDVP als auch für seine Entgiftung im Organismus von Säugetieren.

Den allgemeinen Mechanismus nukleophiler Substitutionsreaktionen am Phosphor veranschaulicht im folgenden Abbildung 2:

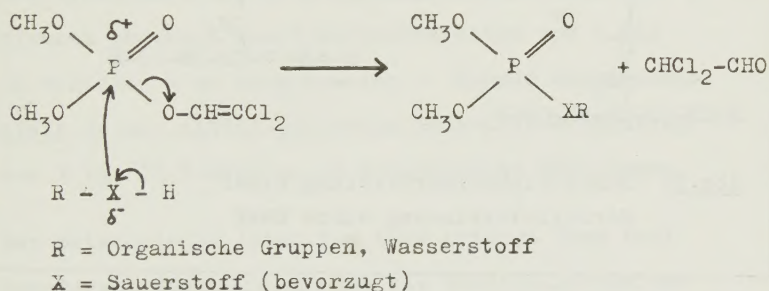
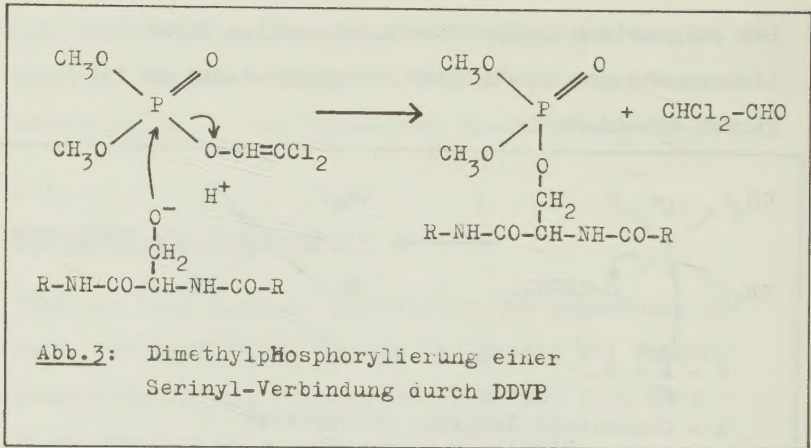


Abb.2: Phosphorylationsreaktionen am DDVP

Auf diese Weise wirkt DDVP akut toxisch durch Hemmung der Acetylcholinesterase. Diese generelle Insektizidität von dialkylierten Phosphorsäure-Triestern kommt wahrscheinlich zustande durch den Angriff des im aktiven Zentrum des Enzyms lokalisierten Serin-Hydroxyls am Phosphor (Wright et al., 1979). Im Falle des DDVP hat dies eine Dimethylphosphorylierung des aktiven Zentrums der Cholinesterase zur Folge, wie Abb.3 zeigt, und damit den Verlust der Enzymaktivität. Die Methyl-Gruppen des DDVP-Moleküls sind höchstwahrscheinlich allein verantwortlich für seine mutagene Aktivität gegenüber der DNA von Mikroorganismen (Wright et al., 1979).



1.4.

Metabolismus

Zahlreiche Veröffentlichungen über metabolische Entgiftung und Abbau von DDVP sind in den letzten Jahren erschienen (Hodgson und Cassida, 1962; Page et al., 1972; Blair et al., 1975; Ehrich und Cohen, 1977). Diese und andere Arbeiten beschreiben orale, intravenöse, intraperitoneale und inhalatorische Applikationsformen, Ergebnisse radioaktiver Markierungen verschiedener Anteile des DDVP-Moleküls und Versuche mit sowohl einer Reihe bestimmter Spezies von Säugetieren als auch unterschiedlichen Geweben von diesen, wie Haut, Fettgewebe, Skelettmuskel, Herz, Lunge, Gehirn, Blutplasma und Erythrozyten. Keiner dieser Autoren

fand Anzeichen, daß DDVP oder ein potentiell toxischer Metabolit davon sich irgendwo im Organismus ablagert oder akkumuliert. Bestätigt wird von allen die Hypothese, daß DDVP in Säugetieren rasch und wirksam abgebaut wird; Halbwertszeiten von 2 bis 30 Minuten - je nach Spezies - werden beschrieben; Blair et al. (1975) berichten DDVP-Halbwertszeiten von 7 bis 11,6 Minuten im menschlichen Blutplasma.

Der metabolische Abbau von DDVP erfolgt über zwei Hauptwege: die Hydrolyse und die Demethylierung des Moleküls. Sowohl beim Menschen wie auch bei Ratten, Mäusen, Hamstern und Schweinen wurde das Funktionieren dieser Wege aufgezeigt, wobei ihre relative Gewichtung bezüglich Spezies bzw. Applikationsart und Stärke der Giftdosis etwas variiert.

Hydrolyse. Die primären Abbauprodukte des hydrolytischen Weges - Abb.4 zeigt diesen Stoffwechsel von DDVP - sind Dimethylphosphat, welches unverändert im Urin ausgeschieden wird, und Dichloracetaldehyd. Letzterer konnte weder im Organismus noch in Exkreten von Versuchstieren nachgewiesen werden, da er sofort weiter abgebaut wird. Er wird entweder zu Dichloräthanol reduziert, welches glucuroniert im Urin erscheint, oder dechloriniert. Das Chlorid-Ion wird im Urin ausgeschieden, die entstehende symmetrische Zwei-Kohlenstoff-

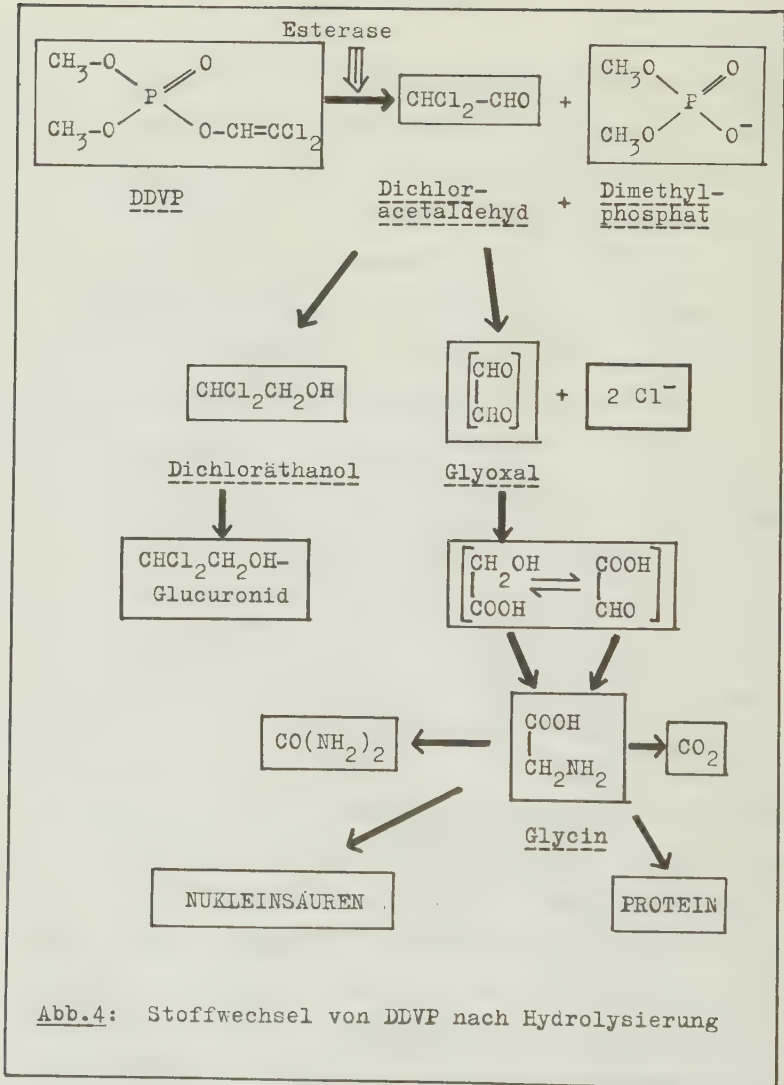


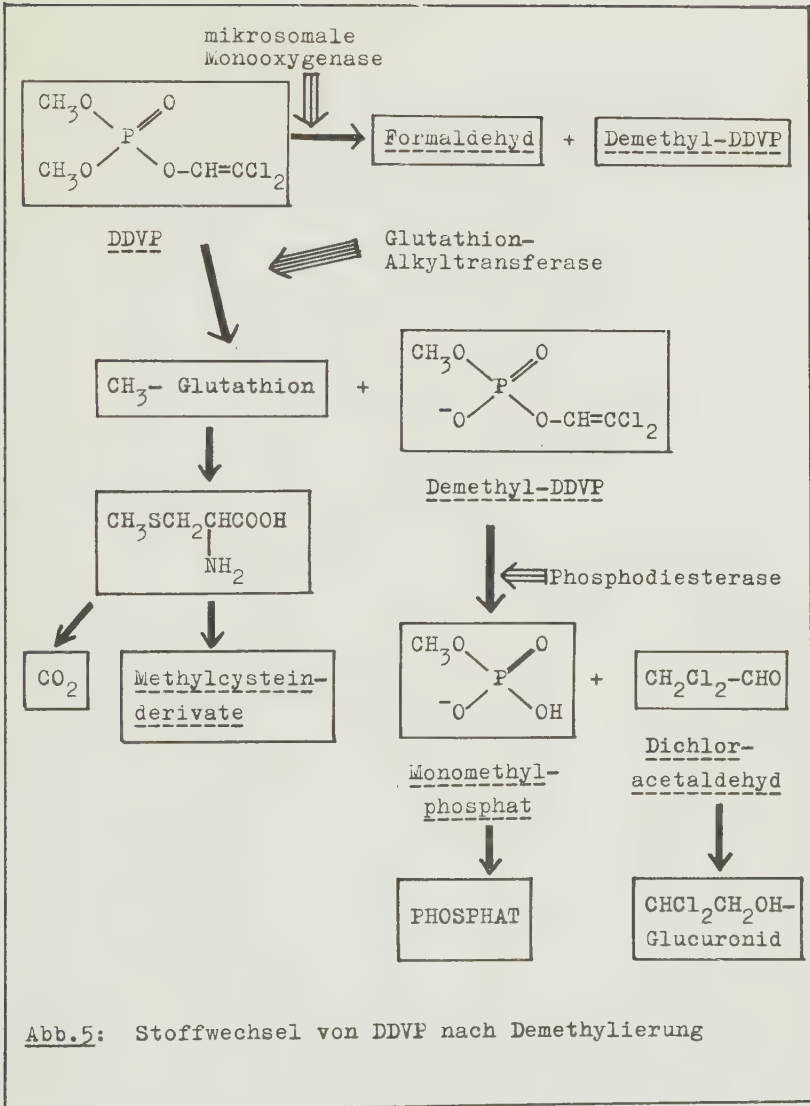
Abb.4: Stoffwechsel von DDVP nach Hydrolysierung

Verbindung (Glyoxal) geht in den normalen Intermediärstoffwechsel ein, wobei sie via Glycin unter anderem der Synthese von Protein und Nukleinsäuren dienen kann.

Die in vitro-Studien von Blair et al. (1975) weisen nach, daß Blutplasma von Säugetieren ein Enzym enthält, welches durch Angriff am Phosphor die 2,2-Dichlorvinyl-Gruppe eliminiert, wobei das dimethylphosphorylierte Enzym sofort wieder zu aktivem Enzym und Dimethylphosphat hydrolysiert wird. Daß es sich hierbei um ein Enzym handelte, zeigt (1) der Aktivitätsverlust nach Erhitzen des Plasmas auf 100°C für 2 Min. und (2) die Tatsache, daß die Reaktion der Michaelis-Menten-Kinetik folgt (Blair et al., 1975). Die ermittelte K_m von $3,2 \times 10^{-6}$ mol/l weist hin auf besondere Effektivität dieses Plasmaenzyms bei niedrigen Substratkonzentrationen. Die Werte dieser Autoren bei niedrigsten DDVP-Konzentrationen im Blut (10^{-6} M) jedoch entsprachen der Lineweaver-Burke-Kurve kaum, die Hydrolysierung zu aktivem Enzym und Dimethylphosphat war zu langsam, um eine Hydrolyse von DDVP feststellbar zu machen. So gilt es als wahrscheinlich, daß einige der Enzyme, die durch DDVP gehemmt werden, z.B. Carboxylesterase und Plasma-Cholinesterase, bei der Beseitigung kleiner Mengen des Giftes eine Rolle spielen. Allerdings sind diese Esterasen an der Verminderung der akuten Toxizität von DDVP nicht signifikant beteiligt. Dafür sind die o.g. Enzyme verantwortlich, welche, wie man annimmt, echte Phosphotriester-Hydrolasen sind. Aus

der raschen Hydrolyse durch diese Arylesterasen (Ehrich und Cohen, 1977) resultiert die geringe DDVP-Toxizität für Säugetiere.

Demethylierung. Zwei verschiedene Mechanismen stehen für die enzymatische Demethylierung von DDVP zur Verfügung: (1) Oxidation mit Hilfe eines mikrosomalen Monooxygenase-Systems und (2) Transfer einer Methylgruppe durch die Glutathion-Alkyltransferase. Der oxydative Prozeß, aus dem als Primärprodukte Formaldehyd und Demethyl-DDVP hervorgehen, wurde zwar von Hutson et al. (1971) in vitro aufgezeigt, konnte jedoch bisher noch nicht in vivo demonstriert werden. Die primären Produkte, die aus der Demethylierung durch die Glutathion-Alkyltransferase hervorgehen, sind Demethyl-DDVP und S-Methyl-Glutathion. Eine Phosphodiesterase katalysiert hierbei die Hydrolyse von Demethyl-DDVP zu Monomethyl-Phosphat und Dichloracetaldehyd; das S-Methyl-Glutathion wird weiter abgebaut und als Mischung verschiedener Methylcystein-Derivate und als Kohlendioxid ausgeschieden, wie Abb.5 veranschaulicht. Die Glutathion-Alkyltransferase konnte in der Leber und in anderen Geweben bei Mensch und Säugetieren nachgewiesen werden.



Quantitativ kommt der Entgiftung von DDVP über diesen Weg der Demethylierung allerdings eine untergeordnete Bedeutung zu. Ehrich und Cohen (1977) konnten zwar eine signifikante Abnahme der Glutathion-Alkyltransferase (GSH) feststellen. Je geringer jedoch die Gift-Konzentration ist, desto unbedeutender wird die Demethylierung als Abbauweg von DDVP. Hier spielt nur noch die Esterase-katalysierte Hydrolyse eine Rolle.

2. Problemstellung

Die Fragestellung in dieser Arbeit ergab sich durch den Nachweis eines spezifischen, intermediär vererbten abbauenden Enzyms für E 600, einem dem DDVP strukturell verwandten und im Wirkungsmechanismus gleichen Phosphorsäureester:

E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat = Paraoxon) entsteht im Organismus aus E 605 durch Ersatz des Schwefels durch Sauerstoff.

Zunächst beobachtete Aldridge (1953), daß gewisse Arten von Esterasen durch E 600 gehemmt wurden, während andere Arten gegenüber dem Gift unempfindlich waren. Augustinsson und Heimburger (1954) fanden ein Enzym, das sie Phosphorylphosphatase nannten, bei dessen Anwesenheit die Hemmbarkeit der Cholinesterase durch E 600 herabgesetzt war. Durch Vergleich von Paraoxon mit einem anderen Alkylphosphat (Armin) postulierten Skrinjaric-Spoljar und Reiner (1968) ein Enzym mit besonderer Paraoxonaseaktivität im Serum, weil E 600 meist schneller als Armin hydrolysiert wurde.

Im gleichen Jahr konnte Krisch (1968) die Spaltung von E 600 durch menschliches Serum nachweisen. Dabei erkannte er verschiedene Gruppen, die sich in der Höhe der Esteraseaktivität unterschieden und erwähnte die

Möglichkeit einer genetischen Verankerung der differierenden Enzymaktivitäten.

1969 fanden Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf hierfür eine Aufsplitterung der Probanden in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Serumcholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600. Schließlich gelang 1972 Geldmacher-v.Mallinckrodt et al. der Nachweis einer hochsignifikanten Korrelation ($r = +0,82$) zwischen der Serumcholinesterase-Restaktivität und der enzymatischen Spaltung von E 600; demnach weisen Personen mit hoher Paraoxonase-Restaktivität auch eine hohe Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 auf. Dieses Ergebnis bestätigte die Annahme, daß die unterschiedliche Vergiftbarkeit menschlicher Serumcholinesterase nicht durch einen Polymorphismus der Cholinesterase selbst, sondern durch Unterschiede in der jeweiligen Paraoxonase-Aktivität herrührt. Familienuntersuchungen von Geldmacher-v.Mallinckrodt et al. (1973a) führten zu dem Ergebnis, daß der nicht geschlechtsgebundene Polymorphismus der menschlichen Paraoxonase wahrscheinlich genetisch determiniert ist und einem einfachen Zwei-Allele-Modell folgt. Tabelle 1 zeigt die Bezeichnungen, die die Autorin zur einfachen Darstellung ihrer Ergebnisse wählte:

Tab.1:

Bezeichnung für die Paraoxonase-Typen

(nach Geldmacher-v.Mallinckrodt et al., 1973 a)

Serum- Cholinesterase- Restaktivität	Serum- Paraoxonase- Aktivität	Paraoxonase- Typ
niedrig	niedrig	1 - 1
mittel	mittel	2 - 1
hoch	hoch	2 - 2

Die Einteilung der Serumcholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit Paraoxon in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Aktivität konnte Dumbach (1976) an einem umfangreichen Untersuchungsmaterial bestätigen. Die nach Krisch (1963) gemessene Paraoxonase-Aktivität des menschlichen Serums zeigte eine Mischverteilung von drei Verteilungen. Die bei Serumuntersuchungen an 99 Familien mit 180 Kindern mittels der Anti-Cholinesterase-Technik gemessenen Ergebnisse wiesen auch eindeutig auf eine Vererbung der Paraoxonase-Typen nach einem einfachen Zwei-Allele-Modell hin. Die Verteilung der drei Paraoxonase-Typen, bestimmt mit der Anti-Cholinesterase-Technik bei 799 nicht blutsverwandten

Personen, stimmt sehr gut mit der Hardy-Weinberg-Regel überein, was für eine Vererbung nach dem einfachen Zwei-Allele-Modell spricht.

Untersuchungen zur Spezifität der menschlichen Serum-paraoxonase von Geldmacher-v.Mallinckrodt et al.

(1973b) zeigen eine hohe Substratspezifität des Enzyms, welches schon auf geringe Veränderungen am Substratmolekül reagiert.

All diese Erkenntnisse über E 600 lassen natürlich fragen, ob beim Abbau des neueren (und weniger erforschten) DDVP ähnlich spezifische Mechanismen wirksam werden. Mögliche Korrelierbarkeit der Meßgrößen meiner Untersuchung miteinander sowie mit bestimmten Persönlichkeitsmerkmalen bzw. -größen der Probanden sollen Aufschluß liefern über Fragen wie:

- handelt es sich beim Abbau von Paraoxon und von DDVP um das gleiche Enzym ? Wenn ja, dann müßte sich der selbe Polymorphismus nachweisen lassen.

Ferner:

- gibt es Hinweise auf die Existenz einer spezifischen "DDVP-ase" ?
- lassen sich beim Abbau von DDVP geschlechts- oder altersabhängige Unterschiede feststellen ?

3. Untersuchungsmethode

Die Serumcholinesterase-Aktivitäten mit Butyrylcholin-jodid (BCJ) als Substrat wurden mit Hilfe einer Warburg-Apparatur Typ V 35 der Fa. Braun, Melsungen, gemessen. Dabei kam die manometrische Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958) zur Anwendung.

3.1.

Gewinnung des Serums

Vom Venenblut der 100 nicht blutsverwandten Spender erhielt ich 80 Proben von der Blutbank der hiesigen Universitätskliniken. Aus der Zusammensetzung von deren Blutspender-Personenkreis resultiert das starke zahlenmäßige Überwiegen der männlichen Probanden in dieser Untersuchung. Die restlichen 20 Blutproben stammen aus meinem Bekanntenkreis.

Sämtliche Blutproben wurden sofort nach Entnahme im Kühlschrank bei 4°C. aufbewahrt und zum nächstmöglichen Zeitpunkt zentrifugiert. Sichtbare Hämolyse war bis zum Versuchsbeginn bei keiner Blutprobe eingetreten; zwischen Entnahme des Venenblutes und der Serumcholinesterase-Aktivitätsmessung lagen in keinem Fall mehr als 24 Stunden.

3.2.

Herstellung der Lösungen

- Verdünnungslösung (Pufferlösung) für das Serum:
10 Teile 0,9 %ige NaCl - Lösung
+ 3 Teile 1,26 %ige NaHCO₃-Lösung
- DLVP-Giftlösung:
Giftansatz I : 10 μ l DDVP in 110 ml Aqua bidest
geben und gut schütteln
Giftansatz II: 10 μ l aus Giftansatz I in
120 ml Verdünnungslösung geben
und ebenfalls gut schütteln
- Butyrylcholinjodid-Lösung (BCJ-Lösung):
0,546 g BCJ in 100 ml Aqua bidest auflösen

3.3.

Versuchsablauf

Auf jeweils 0,15 ml Serum wurde 1,35 ml Verdünnungslösung bzw. 1,35 ml des Giftansatzes II pipettiert. Sofort nach der Vergiftung des Serums wurde die Zeituhr auf 1 Stunde gestellt (Inkubationszeit). Anschließend wurden in den Reaktionsraum der Warburggefäße 1,5 ml Butyrylcholinjodid-Lösung und in die Anhangsbirne jeweils 0,5 ml des verdünnten bzw. des vergifteten Serums einpipettiert.

Pro Versuchslauf konnten drei Personen untersucht werden, wobei von jeder zwei Serumcholinesterase-Ausgangswerte und zwei Werte nach Vergiftung ermittelt wurden. Zur Kontrolle der Eigenhydrolyse dienten jedesmal zwei Leerwerte aus reiner Verdünnungslösung und Substrat. Nachdem die ent-

sprechenden Lösungen in die Warburggefäße pipettiert waren, wurden diese an die Manometer angeschlossen und in ein Wasserbad von 37°C gehängt. Nach Ablauf von 30 Minuten seit Inkubationsbeginn wurden die Kölbchen mit den Reaktionssubstanzen 27 Minuten lang mit einem Gemisch aus 95 % N_2 und 5 % CO_2 unter Rütteln (Frequenz 100/min) begast. Nachdem die Inkubationszeit von 60 Minuten abgelaufen war, wurde die Rüttelautomatik abgeschaltet und der Inhalt der Anhangsbirnen vollständig in die Reaktionsräume entleert. Nach der Notierung der Manometerdifferenzen wurden die Systeme nach außen hin abgeschlossen und die Rüttelautomatik wieder angeschaltet. 15 und 30 Minuten später erfolgte das Ablesen der erreichten Manometerstände.

3.4.

Berechnung der Restaktivität

Für die Versuchsauswertung waren die nach 30 Minuten notierten Manometerwerte entscheidend. Von diesen Werten wurden die vorher ermittelten Manometerdifferenzen abgezogen, die so erhaltenen Werte anschließend mit der jeweiligen Manometerkonstante (Süllmann, 1964) multipliziert. Aus den zwei Ausgangswerten, den zwei Werten nach Vergiftung und aus den beiden Leerwerten wurde nun jeweils das arithmetische Mittel gebildet und der so errechnete Leerwert von den beiden Mittelwerten

der Enzymmessung abgezogen.

Der auf diese Weise ermittelte Wert des unvergifteten Serums wurde als 100 % (= Ausgangsaktivität der Serumcholinesterase in $\mu\text{l CO}_2$) genommen. Aus dem Wert des vergifteten Serums konnte man so die Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität berechnen.

4. Auswertung

4.1.

Aufstellung der gemessenen Einzelwerte

In Tab.2 folgt die Aufstellung der einzelnen bei der Messung mit der Warburg-Apparatur ermittelten Werte. Die Ausgangs- und die Restaktivität der Serumcholinesterase (in $\mu\text{l CO}_2$ nach 30 min) einer jeden Versuchsperson - deren Lebensalter ebenfalls angegeben ist - stellt den jeweiligen Mittelwert aus zwei Einzelmessungen dar. Daneben wurde durch einfache Subtraktion der Restaktivität von der Ausgangsaktivität bei jedem Probanden ermittelt, wieviel Enzymaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$) seine Serumcholinesterase 30 min nach Vergiftung des Serums mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8} \text{ M}$) eingebüßt hat.

Die Reihenfolge der Aufstellung wurde nach steigender Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität vorgenommen. Diese streut in einem Bereich von 27,96 bis 62,14 %.

Tab.2: Aufstellung der mit der Warburg-Apparatur
gemessenen Einzelwerte

<u>Name</u>	<u>Alter</u> (Jahre)	<u>Ausgangsaktivität</u> (=AA; Manometer- wert in $\mu\text{l CO}_2$ nach 30 min) ²	<u>Restaktivität</u> (=AA; Manometer- wert in $\mu\text{l CO}_2$ nach 30 min) ²	<u>Restaktivität (AA-RA)</u> (=AA; Manometer($\mu\text{l CO}_2$) (in % der Aus- gangsaktivität)	<u>Restaktivität</u> (in % der Aus- gangsaktivität)
Zöbelein Brigitte	19	163,28	45,66	117,62	27,96
Krauss Jürgen	39	244,84	70,32	174,52	28,72
Schubert Wolfgang	50	212,73	64,51	148,22	30,32
Heisig Sigrid	27	190,26	58,28	131,93	30,63
Rußmann Peter	41	200,85	62,32	138,53	31,03
Schmorell Ilse	50	182,34	57,30	125,04	31,43
Stoll Thomas	28	226,90	71,37	155,53	31,45
Reck Adam	44	209,34	66,00	143,34	31,53
Popp Luise	51	199,70	64,18	135,52	32,14
Schnell Ludwig	39	233,13	76,03	157,10	32,61
Schmitt Alfred	53	247,05	81,41	165,64	32,95
Ruppel Herta	53	186,78	62,10	124,68	33,25
Ernst Anton	44	192,36	64,08	128,28	33,31
Kunstmann Günther	21	216,63	72,40	144,28	33,41
Donatin Theo	31	153,17	51,47	101,70	33,60
Heuberger Rudolf	64	171,24	57,82	113,42	33,76
Hübner Hannelore	34	171,59	58,24	113,35	33,94
Dankerl Regina	21	171,21	58,39	112,82	34,10
Knauer Erich	37	259,42	88,65	170,77	34,17
Daum Peter	25	155,05	53,46	101,59	34,48

Forts. Tab.2

<u>Name</u>	<u>Alter</u>	<u>Ausgangsaktivität</u> (=AA in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität (AA-RA)</u> (=RA in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> ($\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> (in % der AA)
Reif					
Roland	24	131,24	62,99	118,25	34,76
Hornung					
Horst	53	209,40	73,21	136,19	34,96
Adomeit					
Heinz	37	226,58	30,03	146,55	35,32
Grüttner					
Manfred	39	203,64	72,66	130,98	35,68
Richter					
Dieter	24	183,63	65,72	117,81	35,79
Pelzner					
Sabine	38	167,54	60,54	107,00	36,14
Link					
Ulrich	22	196,16	71,15	125,01	36,27
Löschel					
Rudolf	25	210,09	76,53	133,56	36,43
Postler					
Alfons	43	201,98	73,64	128,34	36,46
Jeitner					
Kurt	46	199,96	73,12	126,34	36,57
Hebele					
Alois	53	197,44	72,25	125,19	36,59
Dinkelmeyer					
Johannes	25	215,13	79,73	135,40	37,06
Sapper					
Friedrich	43	240,78	39,31	151,47	37,09
Günkel					
Rolf	28	123,42	47,93	90,44	37,36
Cigic					
Slatko	25	198,64	74,44	124,20	37,47
Ruppel					
Karl	54	194,80	73,09	121,71	37,52
Hösch					
Albert	47	218,74	82,20	136,54	37,58
Hirth					
Benno	21	209,90	78,98	130,92	37,63
Deuring					
Harald	29	201,25	75,77	125,48	37,65
Hebele					
Maria	58	192,04	72,49	119,55	37,75

Ports. Tab. 2

<u>Name</u>	<u>Alter</u>	<u>Ausgangsaktivität</u> (in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> (in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>(AA-SA)</u> ($\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> (in % der AA)
Dotterweich Martin	46	139,00	52,47	86,53	37,75
Bodes Maria	33	211,47	80,22	131,25	37,93
Fitzek Reinhold	42	203,32	79,71	129,21	38,15
Ottenschläger Anna	54	235,75	30,13	145,62	33,23
v. Sengbusch Ralf	32	233,23	91,63	146,55	33,43
Augustin Ignaz	40	210,33	31,37	129,61	33,57
Kauh Elisabeth	25	141,13	54,37	36,31	33,37
Sauer Josef	45	200,72	78,31	121,91	39,26
Greiner Kuth	21	213,12	33,32	129,30	39,33
Krumm Peter	41	221,62	37,39	134,23	39,43
Hartmann Georg	46	213,13	35,55	127,63	40,13
Zeder Berta	59	227,50	35,61	141,39	40,26
Kuhn Richard	26	162,99	66,02	96,97	40,51
Schlitt Berthold	21	202,44	32,20	120,24	40,60
Götz Josef	27	195,52	79,43	116,04	40,65
Karl Brigitte	53	157,29	64,07	93,22	40,73
Ruthloff Wolfgang	26	167,33	63,93	94,35	41,10
Wernsdörfer Franz	33	236,56	33,24	133,32	41,53
Dziemballa Harald	29	134,23	56,16	78,12	41,32
Schmorell Georg	56	202,02	34,66	117,36	41,91

Forts. Tab. 2

<u>Name</u>	<u>Alter</u>	<u>Ausgangsaktivität</u> (in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität (AA-RA)</u> (in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> ($\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> (in % der AA)
Fees					
Karl	47	211,10	89,22	121,88	42,26
Schmidt					
Dieter	36	183,86	80,45	103,41	42,60
Flinzberger					
Fritz	55	202,29	86,40	115,89	42,71
Wichert					
Maria	25	198,52	85,18	113,34	42,91
Troege					
Ulrike	27	150,64	64,77	85,87	43,00
Bertelt					
Thomas	21	243,78	106,06	137,72	43,51
Milsch					
Franz	45	258,97	112,96	145,91	43,64
Schübel					
Hartwig	24	135,31	60,65	75,16	44,66
Gottschild					
Roman	37	219,85	98,25	121,60	44,69
Krauß					
Georg	37	172,28	77,70	94,58	45,10
Karg					
Erich	22	211,15	95,89	115,26	45,41
Röder					
Kurt	31	234,98	106,74	128,24	45,42
Rödl					
Kurt	51	197,50	89,79	107,71	45,46
Weller					
Johann	23	202,99	92,38	110,11	45,76
Steiner					
Hans	55	178,75	82,41	96,34	46,10
Renz					
Bernhard	27	220,17	102,16	118,01	46,40
Wagner					
Erich	40	179,77	85,45	94,32	47,53
Jeitner					
Helga	41	220,62	105,19	115,43	47,68
Cantarello					
Alfredo	39	244,09	117,74	126,35	48,23
Steiner					
Anneliese	52	302,92	146,87	156,05	48,48

Ports. Tab. 2

Name	Alter	Ausgangsaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$)	Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$)	(AA-RA) ($\mu\text{l CO}_2$)	Restaktivität (in % der AA)
Ehrl					
Hans	32	236,44	140,11	146,33	48,91
Händel					
Richard	19	193,91	94,37	93,04	43,92
Kuhn					
Richard	26	163,06	32,23	95,73	49,96
Karl					
Gernhard	55	267,56	131,47	136,09	49,14
Thomas					
Lothar	48	252,49	124,34	123,15	49,24
Just					
Maxfred	25	213,96	105,61	108,35	49,36
Maßer					
Lüddiger	25	238,56	119,17	119,39	49,95
Pelzner					
Erich	39	251,36	126,12	125,74	50,03
Heuberger					
Ria	67	195,13	99,54	95,64	51,00
Fopp					
Leonhard	56	235,78	121,12	114,66	51,37
Meßmann					
Hans-W.	41	245,84	127,33	117,96	52,02
Kaufmann					
Peter	23	263,92	138,53	125,39	52,49
Bauer					
Wilfried	37	220,62	116,33	104,24	52,75
Spörlein					
Georg	23	136,71	100,79	95,92	53,98
Amon					
Walter	30	261,08	142,30	113,73	54,50
Schletter					
Edmund	45	275,19	155,72	119,47	56,59
Zeder					
Ernst	68	273,92	158,93	114,84	58,06
Stoll					
Bernhard	30	224,94	134,09	90,85	59,61
Bräuer					
Werner	34	87,54	53,10	34,44	60,66
Euermann					
Rudolf	20	265,21	164,81	100,40	62,14

Auffällig ist der sehr niedrige Wert der Cholinesterase-Ausgangsaktivität von $87,54 \mu\text{l CO}_2$ bei der vorletzten Versuchsperson der Gesamtreihenfolge. Hierbei könnte es sich um eine genetische Variante der Serumcholinesterase handeln (vgl. Goedde et al., 1967). Eine Familienanalyse würde in diesem Fall genaueren Aufschluß liefern.

4.2.

Verteilung der Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivitäten

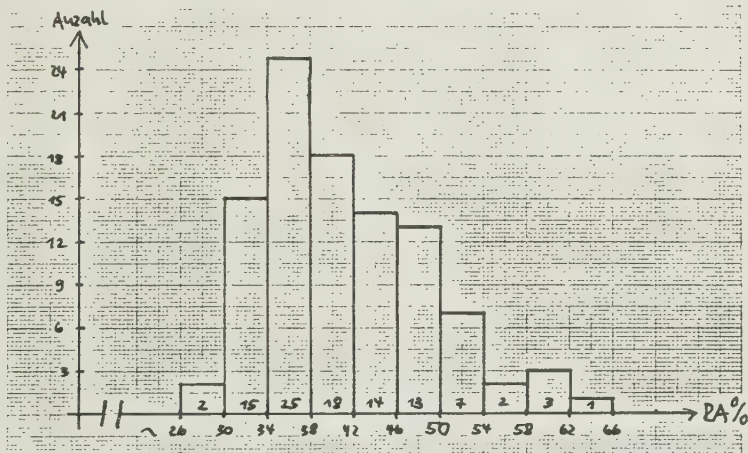
Mit der gewählten Konzentration von $4,85 \times 10^{-8}$ Mol DDVP konnte ein aussagekräftiger Restaktivitätsbereich gefunden werden. Durchschnittswert der Restaktivitäten aller Probanden war hierbei 42,15 % der Ausgangsaktivitäten.

Aus Abb.6 ist ersichtlich, daß die Verteilung der Werte nicht exakt der Normalverteilung folgt. Besonders im oberen Histogramm ist das Maximum nach geringeren Prozentzahlen verschoben, von wo aus die Werte nach links steil abfallen. Nach rechts jedoch streben die Probandenzahlen gegen höhere Prozente hin weitaus flacher der Nulllinie zu.

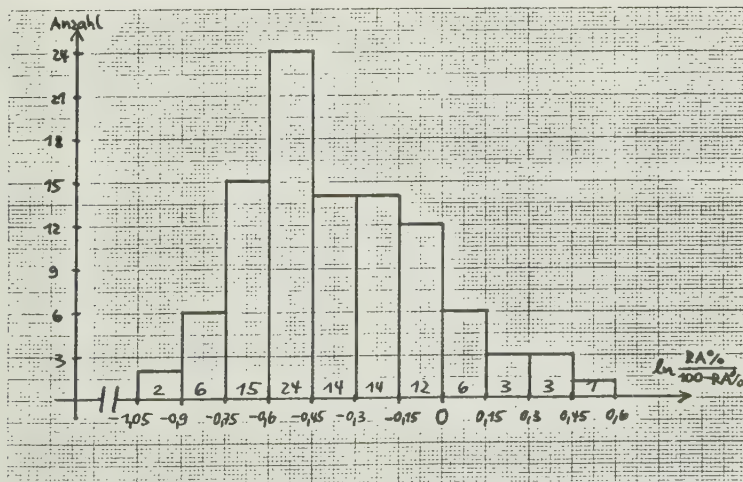
Aus Untersuchungen mit Paraoxon ist bekannt, daß die Abhängigkeit zwischen dem negativen Logarithmus der Giftkonzentration und einer sich ergebenden Cholinesterasehemmung - ausgedrückt in Prozent der Ausgangsaktivität -

Abb.6: Verteilung der Restaktivitäten bei 100 Probanden

A) Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivitäten



B) Werte nach logistischer Transformation



einen S-förmig gebogenen Verlauf zeigt. Geldmacher-v.Mallinckrodt et al.(1972) folgerten daraus, daß die Beziehung zwischen der Paraoxonase-Aktivität und der in dieser Weise ausgedrückten Cholinesterase-Restaktivität nicht linear sein kann.

Mit ähnlicher Problematik (Problem der äquivalenten Differenzen) hat sich schon Koller (1955) befaßt. Entsprechend seiner Methode wurden deshalb die Werte der Cholinesterase-Restaktivität mit $\ln \left(\frac{RA\%}{100-RA\%} \right)$ logarithmisch transformiert (vgl. Geldmacher-v.Mallinckrodt et al., 1979).

Ebenso wurde bei dieser Arbeit verfahren, und von den neuen Werten das untere Histogramm in Abb.6 erstellt. Durch die logistische Transformation konnte das ursprüngliche Histogramm etwas im Sinne einer Normalverteilung entzerrt werden.

4.3.

Einfluß des Geschlechts auf die Serumcholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit DDVP

Tab.3 stellt die Durchschnittswerte dieser Untersuchung für das Gesamtkollektiv, wie auch getrennt für die 80 männlichen und 20 weiblichen Probanden dar. Dabei zeigen die Frauen im Mittel geringere Ausgangs- und geringere Restaktivitäten. Die annähernd gleichen Werte der Differenz Ausgangs- minus Restaktivität weisen darauf

Tab.3: Durchschnittswerte der Serumcholinesterase-Aktivitäten vor und 30 Minuten nach Vergiftung mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8}$ M)

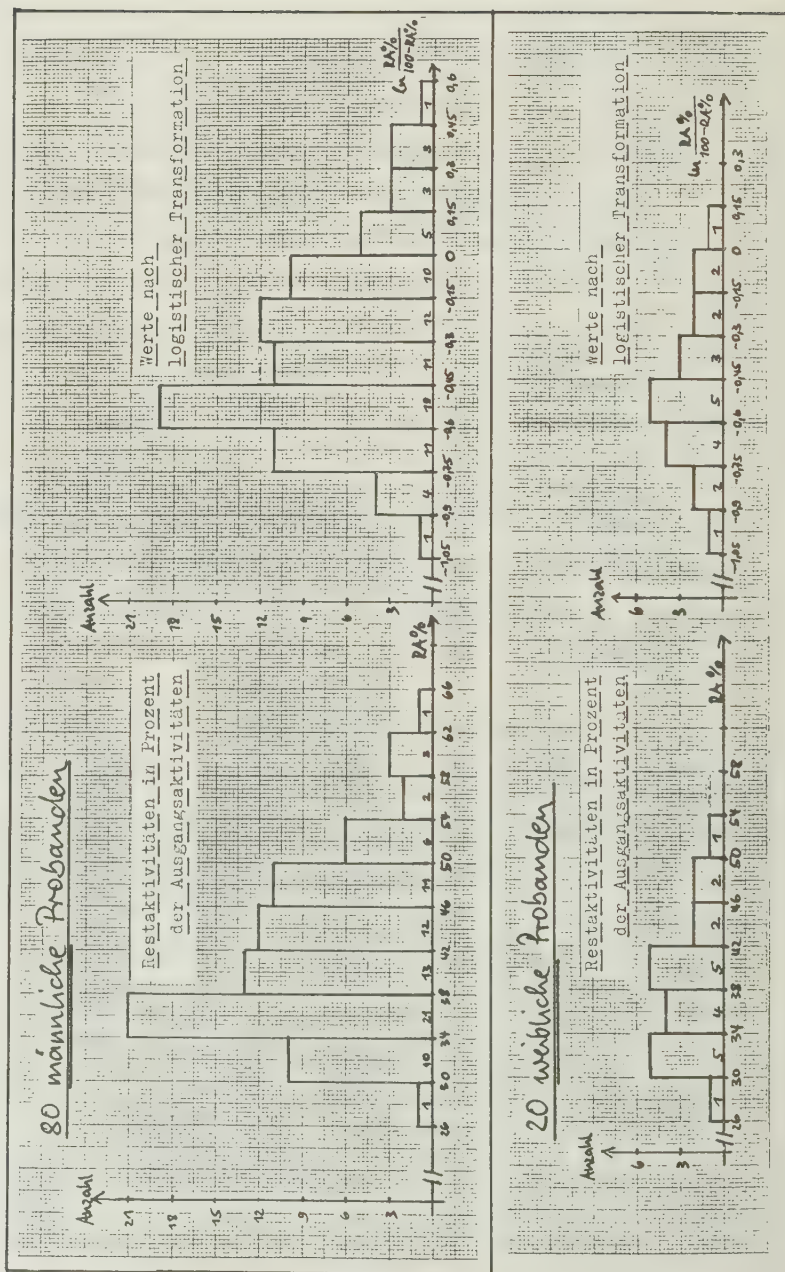
	<u>Anzahl</u> <u>Probanden</u>	<u>Ausgangsaktivität</u> (in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität (AA-RA)</u> (in $\mu\text{l CO}_2$)	<u>Restaktivität</u> in % der AA
<u>Männer</u>	90	207,13	88,97	113,16
<u>Frauen</u>	20	194,45	75,37	119,08

<u>Gesamt</u>	100	204,60	86,25	113,35

hin, daß 30 Minuten nach Vergiftung des Serums mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8}$ M) der Aktivitätsverlust der Cholinesterase (in $\mu\text{l CO}_2$) bei beiden Geschlechtern etwa gleich groß ist.

Abb.7 zeigt die Verteilung der Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivitäten aufgeteilt nach Geschlechtern mit der logistischen Transformation. Besonders bei der entzerrten Verteilung - hier kommt beim weiblichen Kollektiv deutlich eine Normalverteilung zustande - erhebt sich die Frage, ob möglicherweise allein die männlichen Probanden für die auf S.24 beschriebene leichte Verzerrung der Normalverteilung des Gesamtkollektivs verantwortlich zu machen sind.

Abb.7: Verteilung der Cholinesterase-Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivität innerhalb der beiden Geschlechter



Aus den beschriebenen Geschlechtsunterschieden in dieser Untersuchung jedoch allgemeine Gesetzmäßigkeiten postulieren zu wollen, wäre nicht statthaft; solches verbietet vor allem die geringe Anzahl der Versuchspersonen, speziell der Frauen. Es scheint beispielsweise möglich, daß zufällig 20 weibliche Probanden mit relativ niedrigen Serumcholinesterase-Ausgangsaktivitäten in diese Auswahl gekommen sind.

4.4.

Korrelation zwischen Ausgangs- und Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$)

Abb.8 zeigt die Serumcholinesterase-Werte für die Ausgangsaktivität auf der X-Achse und für die Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$) nach Vergiftung mit $4,85 \times 10^{-8}$ molarem DDVP auf der Y-Achse. Es ergibt sich eine Punktwolke, die um eine deutlich erkennbare aufsteigende Gerade streut.

Die Berechnung der einfachen linearen Regression ergab einen Korrelationskoeffizient $r = +0,806$. Dieser Wert verdeutlicht die starke Abhängigkeit von Ausgangs- und Restaktivität.

Abb. 3: Korrelation zwischen der Serumcholinesterase-Ausgangs- und Rest-aktivität (in $\mu\text{l CO}_2$) nach Vergiftung mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8} \text{ M}$) bei 100 Probanden

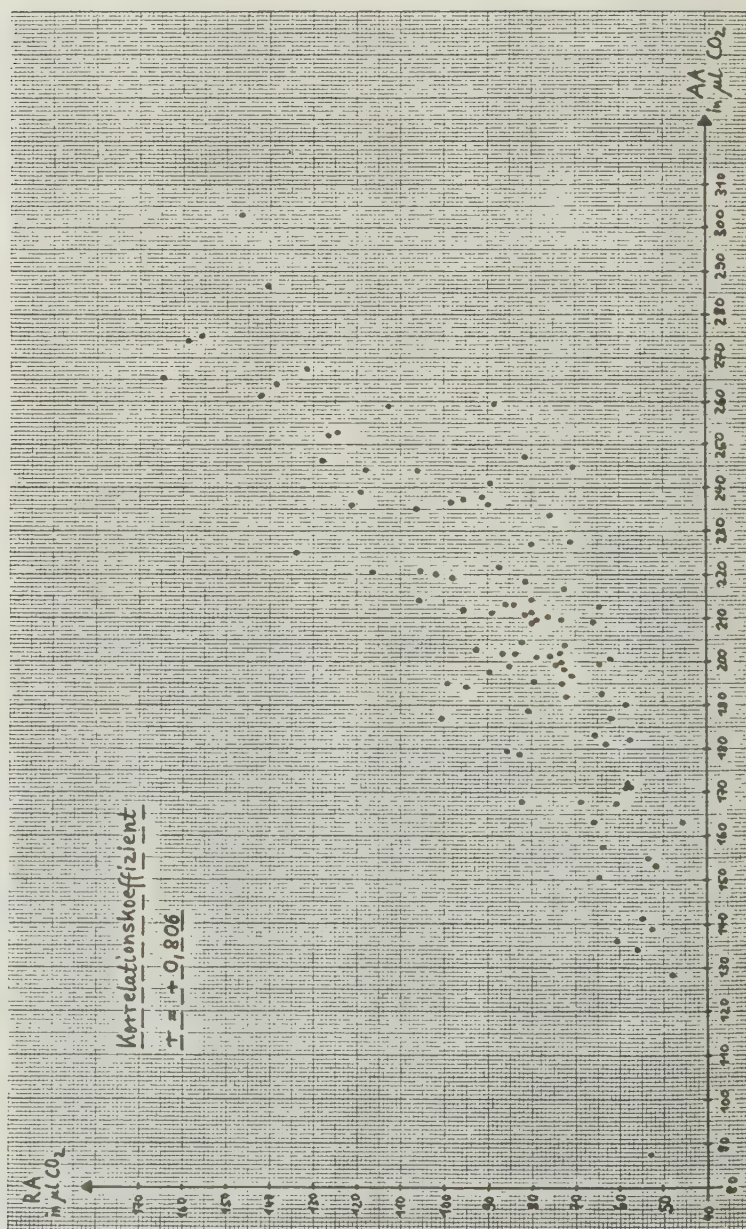
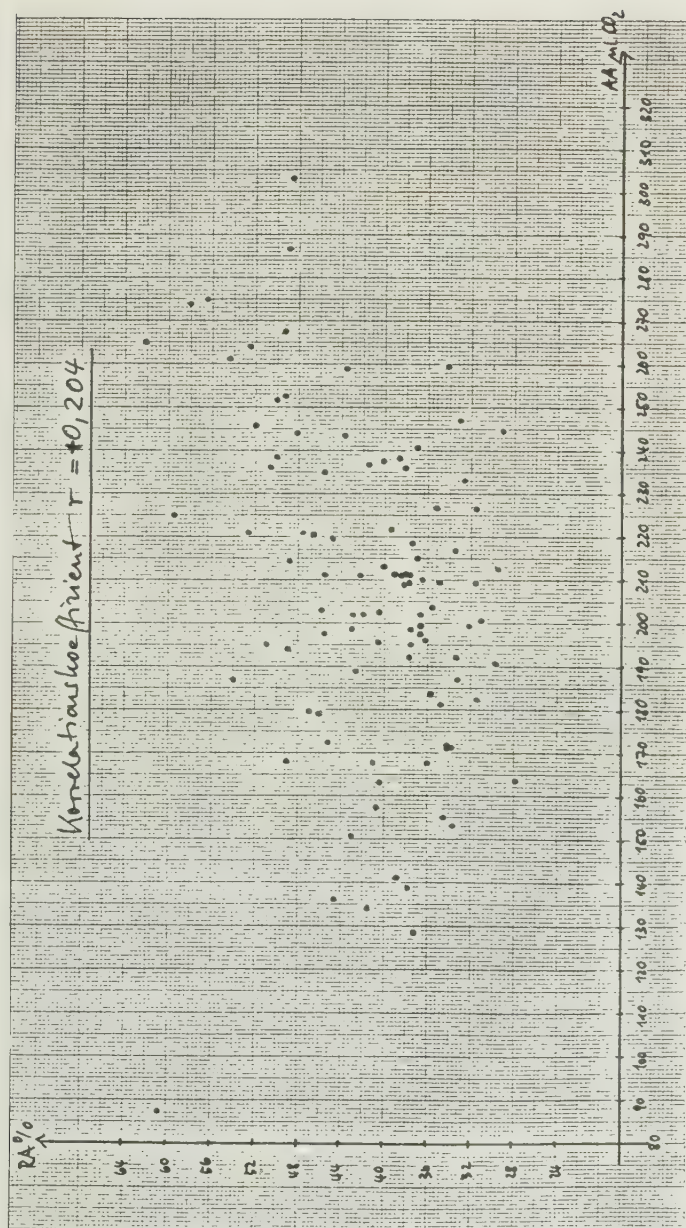


Abb. 9: Korrelation zwischen der Serumcholinesterase-Ausgangsaktivität und der Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität nach Vergiftung mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8}$ M) bei 100 Probanden



4.5.

Korrelation zwischen Ausgangsaktivität und Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität

In Abb.9 sind die Serumcholinesterase-Ausgangsaktivitäten mit ihren jeweiligen Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivitäten nach Vergiftung miteinander korreliert. Die Punktwolke läßt sich kaum im Sinne irgendeiner Abhängigkeit interpretieren.

Die einfache lineare Regression ergab für diese Werte einen Korrelationskoeffizienten $r = +0,204$. Das heißt, wenn überhaupt eine Abhängigkeit besteht, dann ist diese gering.

4.6.

Verteilung der Differenz

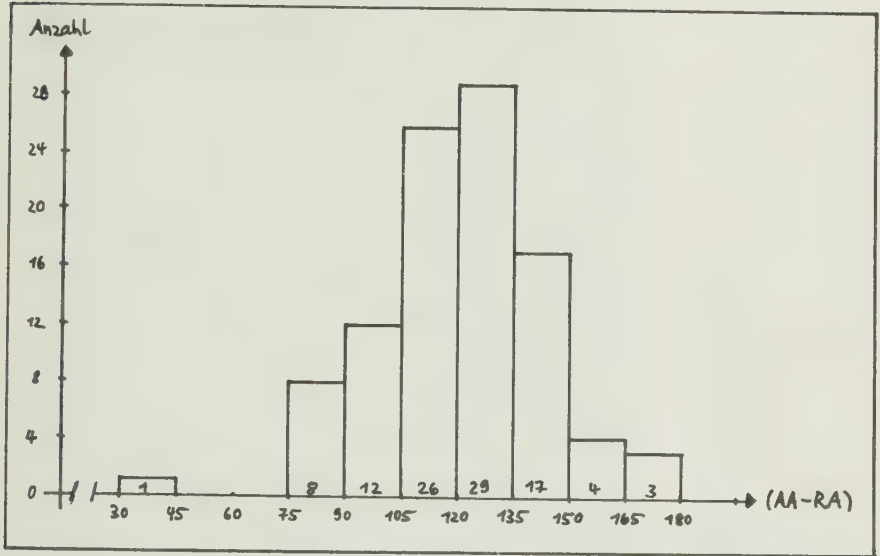
Ausgangsaktivität - Restaktivität ($\mu\text{l CO}_2$)

Der Wert der Differenz gibt an, wieviel Enzymaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$) der Serumcholinesterase 30 Minuten nach Vergiftung mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8} \text{ M}$) durch das Alkylphosphat blockiert ist. Als Durchschnittswert aller Probanden wurde 118,35 $\mu\text{l CO}_2$ für diese Größe errechnet.

Die Verteilung der verschiedenen Werte der Differenz ist in dem Histogramm der Abb.10 dargestellt.

Das Bild kommt dem einer Normalverteilung nahe.

Abb.10: Verteilung der Differenz
Ausgangsaktivität - Restaktivität ($\mu\text{l CO}_2$)



4.7.

Korrelation zwischen Serumcholinesterase-Ausgangsaktivität und der Differenz Ausgangsaktivität-Restaktivität

Die Korrelation zwischen Serumcholinesterase-Ausgangsaktivität und der Differenz zwischen Ausgangs- und Restaktivität (AA-RA in $\mu\text{l CO}_2$) ist in der Punktwolke der Abb.11 visualisiert. Sowohl diese als auch der errechnete Korrelationskoeffizient $r = +0,707$ lassen eine starke positive Abhängigkeit der beiden Größen voneinander erkennen.

Abb. 11: Korrelation zwischen Ausgangsaktivität und der Differenz zwischen Ausgangs- und Restaktivität (AA-RA) in $\mu\text{l CO}_2$



4.8.

Korrelation zwischen dem Lebensalter der Probanden und ihrer Serumcholinesterase-Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$)

Nach Richterich (1973) ist die Serumcholinesterase etwa vom 3. Lebensmonat an bis ins hohe Alter konstant.

Um einen möglichen Einfluß des Alters auf die Cholinesterase-Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$) nach Vergiftung mit DDVP ($4,85 \times 10^{-8} \text{ M}$) festzustellen, wurde die einfache lineare Regression berechnet. Sie ergab bei den 100 Probanden einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,097$. Das heißt, wenn überhaupt eine Abhängigkeit besteht, ist sie gering.

In Abb.12 veranschaulicht eine Punktwolke die mögliche Korrelation.

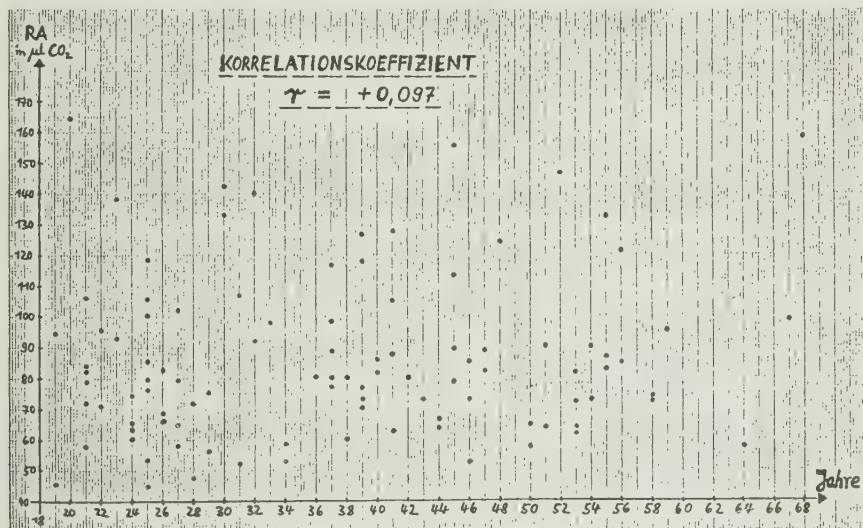


Abb.12: Korrelation zwischen dem Lebensalter der Probanden und ihrer Serumcholinesterase-Restaktivität (in $\mu\text{l CO}_2$)

5. Diskussion und Zusammenfassung

Bei der vorliegenden Untersuchung wurde jeweils 0,15 ml Blutserum von 100 Probanden mit DDVP in $4,85 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration vergiftet, wobei mit Hilfe der modifizierten manometrischen Warburg-Methode die Restaktivität der Serumcholinesterase als ein Indikator für die Aktivität DDVP-spaltender Enzyme bestimmt wurde.

Die von einigen Autoren (Blair et al., 1975) vertretene Auffassung, für die rasche Entgiftung von DDVP im menschlichen Blut sei die Katalyse durch Plasmaenzyme allein verantwortlich, erscheint nach Auswertung der Ergebnisse dieser Untersuchung so global nicht haltbar.

Zwar läßt die hohe Korrelation zwischen Ausgangsaktivität und der Differenz von Ausgangs- und Restaktivität (Abb. 11) vermuten, es sei ein Serumenzym beim Abbau von DDVP beteiligt; die noch höhere Korrelation zwischen Ausgangs- und Restaktivität (Abb. 8) weist jedoch deutlich auf einen Titrationseffekt hin, entstanden durch eine Bindung des Giftes an Serumproteine, denen auch die "vergiftete" Cholinesterase angehört.

Ebenso spricht die nahezu normale Verteilung der Restaktivitäten dieser Untersuchung in Abb. 6 eher gegen die Existenz eines aktiven spezifischen DDVP-abbauenden Enzyms.

Für die Persönlichkeitsmerkmale der Probanden dieser Untersuchung, Alter und Geschlecht, läßt sich keine sichere Korrelation mit deren Serumcholinesterase-Restaktivitäten herstellen.

Um weiteres Licht in den Vorgang der Entgiftung von DDVP im menschlichen Organismus zu bringen, werden noch viele umfangreiche Untersuchungen mit Hilfe weiterer Methoden erforderlich sein.

6. Literaturverzeichnis

ALDRIDGE, W.N.:

Serumesterases. 1. Two types of esterases (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination.

Biochem.J. 53, 110 (1953 a)

ALDRIDGE, W.N.:

Serumesterases. 2. An enzyme hydrolysing diethyl-p-nitrophenylphosphate (E 600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera.

Biochem.J. 53, 117 (1953 b)

AUGUSTINSSON, K.-B., HEIMBURGER, G.:

Enzymic hydrolysis of organophosphorus compounds.

I-VI.

Acta chem. scand. 8, 753, 762, 915, 1533 (1954);

9, 310, 383 (1955)

BLAIR, D., HOADLEY, E.C., HUTSON, D.H.:

The distribution of dichlorvos in the tissues of mammals after inhalation and intravenous administration of dichlorvos.

Toxicol.Appl.Pharmacol. 31, 243 (1975)

CHASSEAUD, I.F.:

The nature and distribution of enzymes catalysing the conjugation of glutathione with foreign compounds.

Drug Metab.Rev. 2, 185 (1974)

DUMBACH, J.:

Statistische Analyse zur Genetik der menschlichen

Serumparaoxonase (EC 3.1.1.2)

Diss. Erlangen (1976)

EHRRICH, M., COHEN, S.D.:

Effect of dichlorvos (DDVP) on mouse liver glutathione levels and lack of potentiation by methyl iodide and TOTP.

Biochem.Pharmacol. 26, 997 (1977)

FRIEDBERG, K.D., ERDMANN, W.D.:

Spontane Reaktivierung der durch Alkylphosphate (Paraoxon, Systox, Isosystox) blockierten Cholinesterase in vitro.

Naunyn-Schmiedeberg Arch.exp.Path.Pharmakol.237,1 (1959)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., RABAST, U., LINDORF, H.:

Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat).

Arch.Toxikol. 25, 223 (1969)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., BAUMGARTNER, W.,
PETENYI, M., BURGIS, H., LINDORF, H.H., METZNER, H.:
Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbar-
keit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der
Aktivität des E 600-spaltenden Enzym-Systems in
menschlichen Seren.

Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chemie 353, 217 (1972)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., LINDORF, H.H.,
PETENYI, M., FLÜGEL, M., FISCHER, T., HILLER, T.:
Genetisch determinierter Polymorphismus der mensch-
lichen Serum-Paraoxonase (EC 3.1.1.2).

Humangenetik 17, 331 (1973 a)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., PETENYI, M., FLÜGEL, M.,
BURGIS, H., DIETZEL, B., METZNER, H., NIRSCHL, H.,
RENNER, O.:

Zur Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase.

Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chemie 354, 337 (1973 b)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., HOMMEL, G., DUMBACH, J.:
On the genetics of the human serum Paraoxonase (EC 3.1.1.2)
Hum.Genet. 50, 313 (1979)

GOEDDE, H.W., DOENICKE, A., ALTLAND, K.:

Pseudocholinesterasen.

Berlin-Heidelberg-New York Springer (1967)

HODGSON, E., CASSIDA, J.E.:

Mammalian enzymes involved in the degradation of
2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate.

J.Agric.Food Chem. 10, 208 (1962)

HUTSON, D.H., HOADLEY, E.C., PICKERING, B.A.:

The metabolic fate of (vinyl-1-¹⁴C)dichlorvos in
the rat after oral and inhalation exposure.

Xenobiotica 1, 593 (1971)

KOLLER, S.:

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse in:

Lang, K. und Lenartz, E., Hrgb.: Handbuch der

physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse Bd.II

Springer-Verlag, Bln.-Heidelbg.-N.Y. (1955)

KRISCH, K.:

Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenylphosphat
durch menschliches Serum.

Z.Klin.Chem.Klin.Biochem. 6, 41 (1968)

PAGE, A.C., LOEFFLER, J.E., HENDRICKSON, H.R.,

HUTSON, C.K., DE VRIES, D.M.:

Metabolic fate of dichlorvos in swine.

Arch.Toxicol. 30, 19 (1972)

RICHTERICH, R.:

Enzymstoffwechsel in:

Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie S.169,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1973

SCHRADER, G.:

Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäure-
Ester.

Weinheim 1963³

SCRINJARIC-SPOLJAR, M., REINER, E.:

Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenyl-phosphate and
ethyl-p-nitrophenyl-ethyl-phosphate by human sera.
Biochem.biophys.Acta 165, 289 (1968)

SÜLLMANN, E.:

Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebs-
stoffwechsels.

In: Lang, K. und Lehnartz, E. (Hrsg.):

Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen
Analyse. Bd.VI, Teil A.

Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York, Springer (1964)

WRIGHT, A.S., HUTSON, D.H., WOODER, M.F.:

The chemical and biochemical reactivity of dichlorvos.
Arch.Toxicol. 42, 1 (1979)

An dieser Stelle gilt mein Dank Herrn Prof.
Dr. H.-B.Wuermeling für die Arbeitsmöglichkeit
an seinem Institut und die freundliche Übernahme
des Koreferates.

Besonders danken möchte ich Frau Prof.Dr.Dr.
M.Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung
des Themas, die Übernahme des Referates und ihre
so überaus freundliche Hilfsbereitschaft.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof.Dr.K.Th.Schricker
von der Blutbank der Erlanger Universitätskliniken
für die großzügige Überlassung von Proben aus
seinem Spendergut, sowie speziell den freundlichen
Schwestern der Blutbank, welche die Blutproben für
diese Arbeit beiseite stellten.

Lebenslauf

Personalien: Wolfgang Joseph Heuberger
geb. 22. März 1954 in Schwabach
als Sohn des Lehrerehepaares
Rudolf und Maria Heuberger,
geb. Lorenz

Ausbildung: 1960-1964 Volksschule in Heilsbronn
1964-1966 Adam-Krafft-Gymnasium
in Schwabach
1966-1973 Wolfram-v. Eschenbach-Gymnasium
(Musisches Gymnasium)
in Schwabach
1973 Abitur
1974-1975 Zivildienst bei der
schulvorbereitenden Einrichtung
der Lebenshilfe Nürnberg e.V.
WS 1975 Beginn des Studiums der
Humanmedizin an der Friedrich-
Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
März 1978 Ärztliche Vorprüfung
Okt. 1982 Ärztliche Prüfung

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197